抑肝散の認知症症状に対する薬理学的検証

認知症モデルに対する抑肝散の 治療効果の薬理学的検証

窪田 香織¹⁾, 野上 愛^{1,2)}, 高崎浩太郎¹⁾, 桂林秀太郎¹⁾,
三島 健一^{1,2)}, 藤原 道弘¹⁾, 岩崎 克典^{1,2)}

要約：我が国は超高齢社会を迎え、認知症患者数の増加は深刻な問題である。しかし認知症の根治的治療法は確立しておらず、患者の日常生活動作 (activity of daily living : ADL) を低下させない新しい認知症治療薬が求められている。その中で、ADL を低下させずに認知症の症状を改善する漢方薬・抑肝散が脚光を浴び、主に幻覚、妄想、抑うつ、攻撃行動、徘徊などの行動・心理症状 (behavioral and psychological symptoms of dementia : BPSD) に使われている。しかし、その作用機序はよく分かっていない。そこで漢方薬である抑肝散の認知症治療薬としての科学的背景を明らかにすることが必要となった。我々は、抑肝散がメタンフェタミン投与による興奮モデル動物において自発運動の異常増加を抑制すること、単独隔離ストレスによる攻撃行動、幻覚モデルとしての DOI 投与による首振り運動、不安様行動、ペントバルビタール誘発睡眠の短縮や夜間徘徊モデルの明期の行動量増加のような BPSD 様の異常行動を有意に抑制することを明らかにした。また、8 方向放射状迷路課題において、認知症モデル動物の空間記憶障害を改善することを見出した。記憶保持に重要な海馬において神経細胞死の抑制やアセチルコリン遊離作用が認められ、これらの作用によって抑肝散の中核症状に対する改善効果も期待できることが示唆された。さらに、中核症状、BPSD いずれにも NGF や BDNF などの神経栄養因子の関与が注目されているが、抑肝散には神経栄養因子様作用や神経栄養因子増加作用があることが分かり、この作用も中核症状・BPSD の改善効果に寄与するものと考えられる。以上のことから、抑肝散は、認知症患者の BPSD ならびに中核症状にも有効で、さらに他の神経変性疾患や

精神神経疾患の治療薬としても応用が期待できることが示唆された。

1. はじめに

世界保健機構の予測によると、2050 年の人類は 100 人に 1 人以上が認知症患者という超高齢社会を迎える。しかし、患者数の増加とは相反して根治的な治療は十分ではなく、アルツハイマー病などの認知症の発症機序の理解と治療法の開発が急務となっている。認知症の症状は、①記憶障害を主とする中核症状と、②幻覚、妄想、抑うつ、攻撃行動、徘徊などの行動・心理症状 (behavioral and psychological symptoms of dementia : BPSD) に分けられる。中核症状である記憶障害に対しては、これを改善する治療法や治療薬の開発が世界中でなされている。認知機能には海馬のアセチルコリン機能が重要で、認知症患者ではこの機能が低下していること (コリン仮説) (1) より、ドネペジルやガラントミンなど中枢アセチルコリンエステラーゼ阻害薬などアセチルコリン補充を目的とする対症療法薬が認知症患者に用いられている (2, 3)。一方、BPSD は比較的早期に発症し、日常生活動作 (activity of daily living : ADL) の低下を引き起こし、患者のみならず介護者の大きな負担となる。BPSD の詳細な発症メカニズムは不明であるため、BPSD の各症状に対して抗精神薬や抗不安薬などが対症療法薬として使われている。これらの薬物では、高齢認知症患者にとって重篤な副作用 (過鎮静、めまい、転倒など) の発現が大きな問題となっている。さらに認知症の発症機序が未だ解明されていないため根治的治療法は確立しておらず、患者の ADL を低下させない新しい認知症治療薬が求められ

キーワード：抑肝散、認知症、BPSD、中核症状
福岡大学¹⁾薬学部 臨床疾患薬理学教室、²⁾加齢脳科学研究所 (〒814-0180 福岡市城南区七隈 8-19-1)

E-mail: kkubota@fukuoka-u.ac.jp 原稿受領日：2013 年 11 月 15 日、依頼原稿

Title: Pharmacological study on the ameliorative effects of Yokukansan on the memory impairment and the behavioral and psychological symptoms of dementia in AD models

Author: Kaori Kubota, Ai Nogami, Kotaro Takasaki, Shutaro Katsurabayashi, Kenichi Mishima, Michihiro Fujiwara, Katsunori Iwasaki

ている。

その中で、ADLを低下させずに認知症のBPSDを改善する漢方薬・抑肝散が脚光を浴びている。抑肝散は、蒼朮、茯苓、川芎、釣藤鈎、当帰、柴胡、甘草の7つの生薬で構成され、神経症や不眠症など神経興奮状態を抑える作用がある漢方薬として知られていた。元来は小児夜泣き、小児疳症など小児向けの処方であったが、近年、アルツハイマー病、脳血管障害、レビー小体病などによる認知症患者のBPSDに効果を示すことが臨床報告された(4-6)。臨床での抑肝散の認知症に対する適応が広がっている一方で、作用機序はよく分かっていない。そこで抑肝散の適切な臨床応用を進めるにあたり、抑肝散の作用を解明し、認知症治療薬としての科学的背景を明らかにすることを目的として、各種認知症モデル（中核症状モデル、BPSDモデル）を作出し、行動薬理的、神経化学的解析を行った。

2. 抑肝散のBPSD改善効果について

我々は、これまでにさまざまな動物モデルを用いてBPSD様行動に対する抑肝散の効果を検討してきた。表1に抑肝散のBPSDに対する作用をまとめた。はじめに、代表的なBPSD症状である幻覚・妄想・興奮・攻撃行動に対する抑肝散の改善効果を行動薬理的に検討した。認知症患者のこれらの行動は介護の上で大きな問題となっている。メタンフェタミンによってヒトでは妄想・興奮を引き起こし、実験動物では自発運動量の増加のような異常行動をきたす。これを興奮モデルとして抑肝散の効果を臨床で用いられている対照薬（リスペリドン）と比較した。その結果、メタンフェタミンによる自発運動量の増加を、抑肝散の経口投与によって有意に抑制した(7)。さらに、単独隔離飼育ストレスによって攻撃行動を誘発したマウスに抑肝散を投与したところ、攻撃行動も有意に抑制された(7)。また、行動薬理的に幻覚と関係が示唆されているセロトニン2A (5-HT_{2A}) 受容体の選択的な作動薬である1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)

-2-aminopropane (DOI) をマウスに投与すると首振り運動が誘発される。ヒトの幻覚に対応するDOIによる首振り運動も、抑肝散投与によって有意に抑制された(8)。いずれの評価方法においても幻覚・妄想・興奮・攻撃行動に対する抑肝散の改善効果がみられた。次に、抑肝散の不安様行動に対する作用を、動物行動試験（高架式十字迷路課題、明暗箱課題）を用いて検討した。いずれの評価方法においても、抑肝散の経口投与によって認知症モデル動物の不安様行動が改善した(9)。またこの改善作用にはセロトニン神経系が関与することも明らかにした。

また、BPSDの他の症状である睡眠障害・夜間徘徊についても検討した。認知症患者は睡眠リズムの障害によって行動が昼夜逆転することも多く、これも介護者の大きな負担となっている。単独隔離飼育ストレスによってペントバルビタール誘発睡眠が短縮することが知られている。これに対して抑肝散を経口投与すると有意な睡眠時間の延長がみられた(10)。さらに単回脳虚血処置とβアミロイド(Aβ)を脳室内に連続微量注入したアルツハイマー型認知症モデルラット(ADモデルラット)を作製し、自発運動量の日内変動を測定した。明期(7:00~19:00、夜行性動物であるラットが主に睡眠をとる時間)に、運動量が異常増加していた。すなわち、ADモデルラットが認知症患者の夜間徘徊に相当する睡眠異常様行動を呈することが分かった。さらに、この動物に抑肝散を投与したところ、明期の運動量の増加が抑制された。一方、暗期(19:00~7:00、ラットの行動期)の運動量には影響を与えなかった(図1)。このようにストレスによる睡眠短縮モデルや夜間徘徊モデルに対しても抑肝散が有効であることが分かった。

抑肝散が、幻覚、興奮や不安、覚醒異常などBPSD様症状を改善することが分かったが、これらの薬理作用には脳内セロトニン神経が深く関与していることが知られている。認知症モデルラットに抑肝散を投与してマイクロダイアリシス法を用いて前頭前野セロトニ

表1 抑肝散のBPSDに対する作用

モデル	評価項目	対照薬	抑肝散	参考文献
幻覚モデル	DOI (5-HT _{2A} agonist) による首振り行動	—	抑制	Egashira et al. 2008. (8)
興奮モデル	メタンフェタミンによる自発運動量の増加	リスペリドン	抑制	Uchida et al. 2009. (7)
攻撃行動モデル	単独隔離飼育ストレスによる攻撃行動	クエチアピン	抑制	
不安行動モデル	脳血管障害型認知症モデルラットの高架式十字迷路課題：滞在時間の延長 明暗箱課題：暗室滞在時間の延長	ジアゼパム	短縮	Nogami et al. 2011. (9)
睡眠短縮モデル	単独隔離飼育ストレスによる睡眠時間の短縮	ジアゼパム	延長	Egashira et al. 2011. (10)

ン遊離量を測定したところ、有意に増加することが分かった。さらに前頭前野において不安誘発に関与する5-HT_{1A}受容体に抑肝散が作用して異常行動を抑制し(11)、さらに5-HT_{2A}受容体の発現量を減少させること(8)も分かっており、これらの作用によって抑肝散がセロトニン神経系を賦活することでBPSD改善効果を呈することが示唆された。

3. 抑肝散の認知障害改善効果について

アルツハイマー病などの認知症の中核症状である認知機能障害に対しては、ドネペジルやガランタミンなどの中枢コリンエステラーゼ阻害薬あるいはNMDA受容体拮抗薬のメマンチンが対症療法的に適応されているのが現状である(1, 2)。抑肝散も現在は認知症の中核症状改善に対して適応されていない。中核症状とBPSDは相互に影響を及ぼし発症すると考えられているため、抑肝散の中核症状に対する作用の検討も重要である。そこで記憶障害に対する抑肝散の効果を動物実験で検証することとした。繰り返し脳虚血処置に

よる脳血管性認知症モデルラットや脳虚血とA β 脳室内注入によるADモデルラットの認知障害について、8方向放射状迷路課題を用いて検討した(図2)。脳血管性認知症モデルラットやADモデルラットでは正選択数の有意な減少と誤選択数の有意な増加がみられ、明らかな空間記憶障害が認められた。さらに記憶の形成・維持に重要な脳内物質アセチルコリン量が海馬において減少することも分かった(12, 13)。これらのモデル動物に抑肝散を経口投与したところ、減少した正選択数を回復し、増加した誤選択数は有意に減少するという空間記憶障害改善効果が認められ、海馬のアセチルコリン遊離促進作用も認められた(12, 13)。さらにADモデルラットでは、神経伝達物質の開口分泌に関わるシナプス小胞関連タンパク質 dynamin1 が減少し、このことがアセチルコリンの遊離低下につながるが(14)、抑肝散はこの dynamin1 タンパク質量を増やし、これが中核症状の改善に関与することを明らかにした(15)。現在臨床では抑肝散はBPSDに対してのみ適応が認められているが、以上のように、抑肝散は中

図1 アルツハイマー病モデルラットの自発運動量の日内変動に対する抑肝散の効果
値は平均値±SE. * $P<0.05$ vs. アルツハイマー病 (AD) モデルラット溶媒投与群, Tukey's test.

図2 脳血管性認知症モデルラットの空間記憶障害に対する抑肝散の効果

8方向放射状迷路課題における正選択数(A), 誤選択数(B)。値は平均値±SE. ** $P<0.01$ vs. 脳血管性認知症モデルラット溶媒投与群, Dunnett test. (文献13より一部改変)

核症状の改善効果も併せ持つことをモデル動物を用いた行動薬理的検証において実証した。

4. 抑肝散の神経細胞保護効果について

アルツハイマー病の病変には神経細胞死による脳の萎縮がある。また、BPSD 様行動に関与するセロトニン神経や記憶保持に関与するアセチルコリン神経の変性に関与する。つまり神経細胞死や神経変性を防ぐことで認知症の予防や治療につながると考えられている。そこで抑肝散にも神経細胞死抑制、細胞保護効果があるのではないかと考え、認知症モデルラットの脳内の組織検討を行った。認知症モデル動物では、脳内海馬領域の神経細胞体の脱落、核の凝集などが生じた。そこで抑肝散を投与したところ、細胞の脱落が抑制され細胞層が保持された (図3) (13)。さらに TUNEL 法によってアポトーシスを検出したところ、抑肝散によって認知症モデルラットのアポトーシス陽性細胞数が減少した。また、アポトーシス実行因子である caspase3 量も抑肝散によって減少していた (13)。このように抑肝散には細胞死抑制・細胞保護作用があることがわかった。

5. 抑肝散の神経栄養因子様効果について

アルツハイマー病などの神経細胞死を病態の特徴とする神経変性疾患やうつ病などの神経精神疾患の研究では、神経保護作用を有する神経栄養因子とのかかわりが注目されている。神経栄養因子は神経細胞の生存や機能維持に重要な働きを担っており、神経変性疾患

やうつ病などでは脳内の神経栄養因子 (NGF, BDNF など) が減少し、神経細胞保護や神経新生の低下、神経機能障害が生じることが報告されている。神経栄養因子の作用機序から治療への応用が試みられており、臨床試験も実施されている (16) が、神経栄養因子は経口投与が難しく脳室内投与する必要があり、さらに筋肉や軟部組織の疼痛等の副作用もあり代替となる治療法が求められている。これまでのモデル動物を用いた実験結果より、抑肝散は神経栄養因子に何らかの影響を与えているのではないかと考え、培養細胞を用いてその神経栄養因子様作用を検討した (図4)。ラット副腎髄質褐色細胞腫 PC12 細胞は、神経栄養因子によって神経様の突起を伸長させ神経様細胞に分化するが、抑肝散処置によって神経様突起が伸長した。抑肝散は、神経栄養因子受容体 Trk の直接活性化作用はないが、神経栄養因子 NGF と同様な Erk 経路、PI3K/Akt 経路の活性化作用があり、この結果神経様突起伸長作用を示すことも明らかにした (17)。また、マウス初代培養アストロサイトにおいて抑肝散が BDNF の発現量を増加させる作用も認められた。このように神経栄養因子様作用もしくは神経栄養因子誘導作用を持つ薬物は、神経保護や神経新生作用を持つ可能性があるため、経口投与が難しい神経栄養因子の代替としてアルツハイマー病などの神経変性疾患や精神神経疾患の治療薬としても応用できると期待される。

6. おわりに

認知症はその病態の進行に伴って BPSD や記憶障害

図3 脳血管性認知症モデルラットの海馬神経細胞死に対する抑肝散の効果

マウス海馬 CA1 領域のヘマトキシリン・エオシン染色 (A~D) ならびに TUNEL 染色 (E~H)。正常ラット群 (A, B, E, F)、脳血管性認知症モデルラット溶媒投与群 (C, G)、脳血管性認知症モデルラット抑肝散 1000 mg/kg 投与群 (D, H)。矢印: TUNEL 陽性細胞。スケールバー: 20 μ m。(文献 13 より一部改変)

図4 抑肝散の神経様突起伸長に対する作用

抑肝散処置によるPC12細胞の形態変化(A:コントロール, B:抑肝散処置)。抑肝散による神経様突起伸長作用に関する神経栄養因子関連シグナルの検討(C~E)。Erk経路阻害薬U0126(C), PI3K/Akt経路阻害薬LY294002(D), Trk阻害薬K-252a(E)の効果。値は平均値±SE。** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs. 各阻害薬未処置コントロール群。Tukey's test. ## $P<0.01$ vs. 各阻害薬未処置+抑肝散処置群, ††† $P<0.001$ vs. 各阻害薬未処置+NGF処置群, Student's t -test. (文献17より一部改変)

など様々な症状を呈するが、抑肝散はその症状に対し多様な作用によって効果を発揮し、また予防医学的な効果も期待できる新しい可能性が示された。今後さらなる研究の発展が求められる漢方薬であるといえる。さらに本研究において抑肝散の認知症治療薬としての新たな薬理作用の科学的背景を明らかにすることで、認知症治療における抑肝散の臨床応用をより推進することが可能となる。また西洋薬だけでは対応が難しい未病や予防などに対しても、漢方薬の臨床応用を進めることが可能となるだろう。

著者の利益相反：窪田香織（株式会社ツムラ）。

文 献

- 1) Terry AV Jr, et al. J Pharmacol Exp Ther. 2003;306:821-827.
- 2) Clegg A, et al. Health Technol Assess. 2001;5:1-137.
- 3) Takeda M. Psychiatry Clin Neurosci. 2011;65:399-404.
- 4) Iwasaki K, et al. J Clin Psychiatry. 2005;66:248-252.
- 5) Iwasaki K, et al. J Clin Psychiatry. 2005;66:1612-1613.
- 6) Mizukami K, et al. Int J Neuropsychopharmacol. 2009;12:191-199.
- 7) Uchida N, et al. Biol Pharm Bull. 2009;32:372-375.
- 8) Egashira N, et al. Prg Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2008;32:1516-1520.
- 9) Nogami A, et al. J Nat Med. 2011;65:275-281.
- 10) Egashira N, et al. J Pharmacol Sci. 2011;116:316-320.
- 11) Kanno H, et al. J Pharm Pharmacol. 2009;61:1249-1256.
- 12) Watanabe T, et al. J Pharmacol Sci. 2008;106:84-91.
- 13) Nogami A, et al. J Trad Med. 2013;30:164-175.
- 14) Watanabe T, et al. J Neurosci Res. 2010;88:1908-1917.
- 15) Uchida N, et al. Phytother Res. 2013;27:966-972.
- 16) Tuszynski MH, et al. Nat Med. 2005;11:551-555.
- 17) Kubota K, et al. J Trad Med. 2013;30:102-113.